

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. med. G. Kuschinsky

ÜBER DAS VERHALTEN
DES EXTRAZELLULÄRRRAUMES VON RATTENZWERCHFELLEN
NACH DENERVATION

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Hohen Medizinischen Fakultät der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

HENRIETTE ROZEK

aus

Wallerfangen/Saar

MAINZ 1959

2



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554419_0066

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. med. G. Kuschinsky

ÜBER DAS VERHALTEN
DES EXTRAZELLULÄRRAUMES VON RATTENZWERCHFELLEN
NACH DENERVATION

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Hohen Medizinischen Fakultät der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
HENRIETTE ROZEK

aus
Wallerfangen/Saar

MAINZ 1959



Referent: Priv. Doz. Dr. med. H. Lüllmann
Korreferent: Prof. Dr. med. G. Kuschinsky
Dekan: Prof. Dr. med. H. Leicher

Datum des Diploms 25. NOV. 1959

MEINEN LIEBEN ELTERN!

Für alle Untersuchungen über das Verhalten der Elektrolyte im Gewebe und ihre Verteilung im Intra- und Extrazellulärraum ist es notwendig, die Größe des Extrazellulärspaces zu kennen. Für eine Reihe von Muskeln liegen in der Literatur sowohl in vivo als auch in vitro durchgeführte Bestimmungen des Extrazellulärspaces vor. Dagegen sind keine Untersuchungen über den Extrazellulärraum am denervierten Muskel bekannt. Im Rahmen der Untersuchungen über den Zusammenhang von elektrischem Verhalten der Muskelmembran und der Ionenverteilung, wie sie seit einiger Zeit im Pharmakologischen Institut auch am denervierten Muskel durchgeführt werden, ist es notwendig, die Größe des Extrazellulärspaces unter diesen Bedingungen zu kennen. Die Versuche, über die in der vorliegenden Arbeit berichtet werden soll, dienen der Feststellung der Größe des Extrazellulärspaces am normalen Rattenzwerchfell und insbesondere am denervierten Muskel. Weiter wurde das Verhalten des Muskels in bezug auf die Größe seines Extrazellulärspaces während des Badaufenthaltes in Tyrodelösung bestimmt. Neben der Messung des Extrazellulärspaces mittels Inulin und Natrium Ferrocyanid wurde die Chloridkonzentration unter identischen Bedingungen bestimmt, um entscheiden zu können, ob der Chloridraum unter den gleichen Versuchsbedingungen identisch mit dem Extrazellulärraum ist oder nicht.

METHODIK

Bestimmung des Extrazellulärspaces (EZR)

Zu den Versuchen wurden Ratten im Gewicht von 160-250 g genommen. Die Denervierung beider Zwerchfelloberhälften erfolgte durch Phrenicusexstirpation von einem Medianschnitt am Halse der Ratte nach der von LÜLLMANN u. MUSCHOLL beschriebenen Methode. Die Bestimmung des EZR erfolgte mit der Natriumferrocyanid- und mit der Inulin-Methode jeweils in vitro und in vivo.

Bei den Versuchen, die in vitro durchgeführt wurden, wurden die Tiere durch Genickschlag getötet, die Zwerchfelle mit den Rippenbögen und dem Centrum tendineum sofort entnommen, so daß die Zwerchfelloberflächen nicht verletzt wurden. Dann wurden sie in eine mit Sauerstoff gesättigte Tyrodelösung (8,0 g NaCl; 0,2 g KCl; 0,2 g CaCl₂; 0,1 g MgCl₂; 1,0 g NaHCO₃; 0,05 g NaH₂PO₄; 2,0 g Glucose; Aqua dest. ad 1000 ml) gelegt und darin aufbewahrt, bis die zweite Hälfte dem Tier entnommen war. Anschließend wurden beide Hälften in einer sauerstoffgesättigten Tyrodelösung von 37° C, die 70 mg% Na-Ferrocyanid bzw. 70 mg% Inulin enthielt, aufgespannt und eine Stunde darin mit dieser Lösung

durchspült. Bevor die Zwerchfelle aus dem Bad genommen wurden, wurde der Tyrodelösung eine Probe entnommen und darin noch einmal der Gehalt der Substanz bestimmt. Die Diaphragmen wurden noch im Bad sorgfältig von den Rippenbögen und dem Centrum tendineum befreit, sodann einmal kurz durch eine Tyrodelösung ohne Na-Ferrocyanid oder Inulin gezogen und sofort 1,5 Minuten zwischen zwei Filtrierpapieren (Blauband) unter bestimmten Druck gelegt, um sie von der anhängenden Flüssigkeit zu befreien. Es war vorher durch eine Reihe von Versuchen genau die Zeit bestimmt worden, die notwendig war, um die anhängende Flüssigkeit zu entnehmen, ohne dabei dem Gewebe Flüssigkeit zu entziehen. Die Zwerchfelle wurden dann mit Seesand zermörsert und mit der zehnfachen Menge ihres Gewichtes mit Wasser ein Extrakt hergestellt. In diesem Extrakt wurde der Na-Ferrocyanidgehalt nach der Methode von HUSSON bzw. der Inulingehalt nach der Methode von HIGASHI u. PETERS bestimmt.

Bei den Versuchen, die in vivo durchgeführt wurden, wurden die Ratten in Äthernarkose beidseitig nephrektomiert, anschließend bekamen sie die Substanz in die Schwanzvene injiziert, und zwar von Na-Ferrocyanid 1 ml einer 2%igen Lösung und von Inulin 0,5 ml einer 30%igen Lösung. Die Tiere wurden eine Stunde nach der Na-Ferrocyanid-Injektion bzw. drei Stunden nach der Inulin-Injektion getötet, indem die beiden Art. carotidiae in Äthernarkose durchtrennt wurden. Das Blut wurde aufgefangen und mit Natriumfluorid (NaF) ungerinnbar gemacht. Anschließend wurden die Zwerchfelle sofort auf dieselbe Weise wie oben beschrieben entnommen, einmal durch Tyrodelösung gezogen und auf dieselbe Art von der anhängenden Flüssigkeit befreit, gewogen und weiter verarbeitet. Im Plasma und in den Diaphragmen wurde der Na-Ferrocyanidgehalt nach der Methode von HUSSON bzw. der Inulingehalt nach der von HIGASHI u. PETERS beschriebenen Methode bestimmt.

Zur Bestimmung im Plasma wurde das Blut in Zentrifugengläschen, in welchen sich zur Verhinderung der Gerinnung NaF befand, aufgefangen und 10 Minuten zentrifugiert. Dann wurden 0,5 ml Plasma in ein anderes Zentrifugengläschen abpipettiert und auf dieselbe Weise enteiweißt und der Na-Ferrocyanidgehalt bzw. Inulingehalt bestimmt wie bei den für den Muskelextrakt beschriebenen Methoden.

Bestimmung von Natriumferrocyanid

im Muskel nach der Methode von HUSSON

Reagenzien:

1. Na-Ferrocyanid: Kristallisiert in 95%igem Äthylalkohol. Von diesem Salz werden Standardlösungen von 1,25 mg%, 2,50 mg%, 5,00 mg%, 10,00 mg% hergestellt.
2. Säuremischung: 35 ml konzentrierte HNO_3 und 40 ml 60%ige Perchlorsäure werden zu 425 ml destilliertem Wasser zugesetzt.
3. Trichloressigsäure 20%ig (20 g auf 100 ml Aqua dest.).
4. Ferrosulfatlösung: FeSO_4 mal 7 H_2O feinkristallin pro Analyse (p. A.) wird bis zur Sättigung zu 1 n H_2SO_4 zugegeben. Auf 100 ml dieser Mischung werden 7-10 Tropfen konzentrierte Salzsäure gegeben. Wenn die Ferrosulfat-Texaponlösung trüb wird, muß filtriert werden.
5. Texaponlösung: Annähernd 25 mg Texapon auf 1 l dest. Wasser (Texapon^(R) = Natrium-Laurylsulfat).

Ausführung:

Der Muskel wurde in einem Schälchen, dessen Leergewicht vorher bestimmt wurde, in einer Analysenwaage gewogen und durch Abzug des Leergewichtes des Schälchens sein Gewicht berechnet, sodann in einem Mörser mit Seesand und dest. Wasser ganz fein zermörsert, und zwar mit der zehnfachen Menge seines Gewichts an Wasser. Das Wasser wurde nicht alles auf einmal zugegeben, sondern z. T. dazu benutzt, den Extrakt vollständig aus dem Mörser in das Zentrifugengläschen zu spülen. Dann wurde in zeitlichen Abständen mehrmals kräftig durchgeschüttelt. Nachdem sich der Seesand abgesetzt hatte, wurden 0,5 ml des Extraktes in ein anderes Zentrifugengläschen abpipetiert und 0,5 ml H_2O und 2,0 ml Säuremischung zugeführt, stehen gelassen und dann 0,5 ml 20%ige Trichloressigsäure zugegeben, umgeschüttelt und zentrifugiert. Zu 2,5 ml des so entweißten Zentrifugates wurden 0,5 ml Ferrosulfatlösung pipetiert. Die Farbintensität wurde mit dem Pulfrich-Stufenphotometer bestimmt, und zwar mit Filter 8. Als Leerwert wurden 0,5 ml Wasser auf dieselbe Weise wie der Muskel-extrakt behandelt. Außerdem wurde immer eine Eichkurve mit Na-Ferrocyanid-lösungen von 1,25 mg%, 2,50 mg%, 5,00 mg%, 10,00 mg% angelegt. Je 0,5 ml dieser Standardlösungen wurden ebenfalls auf dieselbe Weise wie der Muskel-extrakt behandelt. Jeder Wert wurde auf dem Photometer 3 mal mit dem Leerwert auf der rechten und 3 mal mit dem Leerwert auf der linken Seite abgelesen.

Von diesen 6 Werten wurde der Mittelwert bestimmt. Die Werte der Eichkurve wurden auf einem Millimeterpapier aufgetragen, und zwar auf der Abszisse die $\text{mg\% Na-Ferrocyanid}$ und auf der Ordinate die abgelesenen Werte. Die Punkte wurden miteinander verbunden, auf dieser Geraden dann alle übrigen Werte aufgesucht und die zugehörigen $\text{mg\% Na-Ferrocyanid}$ abgelesen.

Beispiel einer Bestimmung in vitro:

Gewicht des Schälchens mit Muskel	4,268 g
Leergewicht des Schälchens	<u>4,134 g</u>
Gewicht des Muskels	0,134 g

Die 0,134 g Muskel wurden mit Seesand und 1,3 ml Aqua dest. zerrieben, davon

- 0,5 ml Extrakt
- + 1,5 ml H_2O
- + 2,0 ml Säuremischung
- + 0,5 ml 20%ige Trichloressigsäure
- = 4,0 ml Flüssigkeit. Diese wurden zentri-

fugiert, dann davon

- 2,5 ml des Zentrifugates
- + 0,5 ml Ferrosulfatlösung

= 3,0 ml. Von dieser Lösung wurde die

Farbintensität bestimmt.

Der Wert 0,167 wurde auf der Eichkurve aufgesucht und der dazugehörige Natriumferrocyanidwert in $\text{mg\%}$ abgelesen = 1,4 $\text{mg\% Na-Ferrocyanid}$.

Eichkurve:

1,25 $\text{mg\% Na-Ferrocyanid}$	-	0,152
2,00 $\text{mg\% Na-Ferrocyanid}$	-	0,305
5,00 $\text{mg\% Na-Ferrocyanid}$	-	0,595

Werte des Zwerchfellextraktes:

0,162
 0,161
 0,170
 0,179
 0,170
0,160

1,002 : 6 = 0,167 (Mittelwert)

Inulinbestimmung im Muskel und Plasma nach der Methode von HIGASHI u. PETERS

Reagenzien:

1. 10%ige Trichloressigsäure (CCl_3COOH) in dest. Wasser.
2. 0,15%ige Lösung von Resorzin (p. A.) in 95%igem Alkohol (unvergällt!).
3. HCl-FeCl_3 : 7,5 mg Ferrichlorid gelöst in einem Liter konz. Salzsäure (HCl).
4. Inulin-Standardlösungen: 100 mg Inulin werden in 100 ml gesättigter Benzoesäurelösung unter leichtem Erwärmen aufgelöst.

Ausführung:

Zu je 0,5 ml Muskelextrakt bzw. Plasma (beides wurde durch die oben beschriebene Methode gewonnen) wurden 6 ml kalte 10%ige Trichloressigsäure gegeben, durchgeschüttelt und 10 Minuten zentrifugiert. Von dem Filtrat wurden 2,0 ml in ein Reagenzglas abpipettiert und 3,0 ml Resorzinlösung zugegeben. Jetzt wurden die Gläschen in Eiswasser gestellt und 3,0 ml $\text{FeCl}_3\text{-HCl}$ in jedes Gläschen dazugegeben. Nach Zusatz zu dem letzten Gläschen wurde 30 Sekunden gewartet. Dann wurden die Gläschen herausgenommen und 20 Minuten im Wasserbad bei $79,0 - 79,5^\circ\text{C}$ (Temperaturkonstanz ist wichtig!) gehalten. (Die Temperatur muß nach Einstellen der Gläschen in 1-3 Minuten erreicht werden.) Nach 20 Minuten, vom Eintauchen an gerechnet, wurden sie herausgenommen und in Eiswasser auf ungefähr 20°C abgekühlt. Dann wurde von diesen Lösungen die Farbintensität mit dem Pulfrichphotometer mit Filter 4 bestimmt. Es wurde parallel bei jeder Versuchsreihe der Leerwert des Zwerchfelles für Inulin bestimmt und dann von den erhaltenen Inulinwerten abgezogen. Jedesmal wurde eine Eichkurve angefertigt.

Beispiel einer Bestimmung in vitro:

Gewicht des Zwerchfells 0,267 g.

Diese 0,267 g Zwerchfell wurden mit 2,7 ml Aqua dest. zerrieben und

davon

0,5 ml Extrakt entnommen.

+ 6,0 ml Trichloressigsäure dazugegeben,

= 6,5 ml. Diese wurden zentrifugiert,

dann davon

2,0 ml des Zentrifugates entnommen,

+ 3,0 ml Resorzinlösung dazugegeben und in
Eiswasser gestellt, dann

+ 3,0 ml FeCl_3HCl dazugegeben und nach

30 Sekunden das Gläschen aus dem Eiswasser genommen und 20 Minuten bei 79,0 - 79,5° C in ein Wasserbad gestellt. Nach 20 Minuten herausgenommen und abgekühlt. Von dieser Lösung wurde dann im Photometer die Farbintensität bestimmt.

Eichkurve:

2 mg% Inulinlösung	-	0,014
5 mg% Inulinlösung	-	0,046
10 mg% Inulinlösung	-	0,108
14 mg% Inulinlösung	-	0,158

Werte des Muskelextraktes:

0,050

0,065

0,058

0,045

0,050

0,055

0,323 : 6 = 0,054 (Mittelwert)

Inulinwert des Muskels: - 0,038

Parallel wurde an einem anderen Zwerchfell der Inulinwert bestimmt. Er betrug in diesem Beispiel 0,038.

Die Werte 0,05 und 0,04 wurden auf der Eichkurve aufgesucht und die dazugehörigen Inulinwerte in mg% abgelesen.

0,05 - 5 mg% Inulin

0,04 - 4 mg% Inulin

Der Leerwert wurde nun abgezogen, um den aufgenommenen Inulinwert zu erhalten. Er betrug in diesem Falle 1 mg% Inulin. Bei jedem Versuch wurden von der gleichen Anzahl Ratten der Leerwert und von diesen Werten der Mittelwert bestimmt. Dieser wurde dann jeweils von den erhaltenen Inulinwerten abgezogen.

Berechnung des EZR aus der Konzentration des Na-Ferrocyanid

Aus der Konzentration des Na-Ferrocyanids läßt sich der EZR auf folgende Weise bestimmen: Im Zwerchfell der Ratte ist weder im EZR noch im Intrazellulärraum (IZR) Na-Ferrocyanid vorhanden, d.h. die Konzentration dieser Substanz (S) ist

im Zwerchfell gleich Null. Nun kommt das Zwerchfell in eine Tyrodelösung, in der die Konzentration der Substanz 70 mg% ist. Da von S bekannt ist, daß sie nur in den EZR, nicht aber in die Zellen diffundiert (KLEEMAN u. EPSTEIN und RUBINI u. LAMDIN), kann man annehmen, daß sich nach einiger Zeit im EZR des Zwerchfelles ebenfalls eine Konzentration der Substanz von 70 mg% einstellt. Nun wird das Zwerchfell der Lösung entnommen, von der anhängenden Flüssigkeit befreit und gewogen. Das Gewicht des Zwerchfelles wird in Gramm festgestellt. Da das spez. Gewicht des Zwerchfelles nur unbedeutend von 1 abweicht (nach CREESE 1,055), wird das Gewicht dem Volumen gleichgesetzt. Das Zwerchfell wird dann in einer Menge von Aqua dest., die zehnmal dem Volumen des Zwerchfelles entspricht, zerrieben. Es wird also in zehnmal dem Volumen des Zwerchfelles an Wasser das Volumen des Zwerchfelles mit der im EZR verteilten Substanz gleichmäßig verteilt. Durch das Zerstören des Zwerchfells wird der Substanz auch der Raum, den die Zellen des Zwerchfells einnehmen, erschlossen. Die Substanz kann sich nunmehr auch in diesem Raum gleichmäßig verteilen, so daß ihr als Raum 11mal das Volumen des Zwerchfells zur Verfügung steht, um sich darin gleichmäßig zu verteilen. In dieser gleichmäßigen Lösung wird nun die Konzentration der Substanz bestimmt zu a mg%, d.h. also: in 100 cm³ dieser Lösung wären a mg der Substanz enthalten. Daraus läßt sich nun die Gesamtmenge der Substanz, die in 11mal Menge des Volumens enthalten ist, bestimmen.

In 100 cm³ sind a mg% von Na-Ferrocyanid enthalten.

In 1 cm³ sind $\frac{a \text{ mg\%}}{100}$ von Na-Ferrocyanid enthalten.

In 11mal dem Volumen des Zwerchfells sind $\frac{a \times 11 V_Z}{100}$ mg Na-Ferrocyanid enthalten. Diese Menge muß ursprünglich allein im EZR des Zwerchfells gewesen sein, da ja die Substanz nicht in die Zellen diffundieren kann, und zwar war diese Menge im EZR in einer Konzentration von 70 mg% enthalten. Es läßt sich folgern:

In 100 cm³ EZR waren 70 mg von der Substanz enthalten, oder 70 mg sind in 100 cm³ EZR enthalten.

Damit ist 1 mg in $\frac{100}{70}$ cm³ EZR enthalten.

Oben wurde festgestellt, daß im EZR insgesamt $\frac{a \times 11 V_Z}{100}$ von der Substanz enthalten waren.

Da 1 mg von S in $\frac{100}{70}$ cm³ enthalten ist, sind $\frac{a \times 11 V_Z}{100}$ von S in $\frac{100}{70}$ mal $\frac{a \times 11 V_Z}{100}$ cm³ enthalten.

Da $\frac{11}{70} = 0,157$ ist, wird aus diesem Ausdruck 0,157 mal a mal V_Z cm³ ERZ,

d.h. also: die gemessene Menge von S war in dem Bruchteil von V_Z enthalten, den das Produkt von 0,157 mal a angibt, oder anders ausgedrückt: Das Produkt 0,157 mal a gibt den Raum in Bruchteilen des V_Z an, in dem die gemessene Menge von S sich befand, d.h. den EZR in Bruchteilen von V_Z .

Bei den Bestimmungen in vivo wurde dem Tier die Substanz in die Schwanzvene injiziert. Da die Ratten nephrektomiert waren, konnte sie nicht ausgeschieden werden, und sie verteilte sich mit der Zeit gleichmäßig im EZR des Körpers. Man bestimmt die Konzentration im Plasma, und die weitere Berechnung beruht auf demselben Prinzip, das oben beschrieben wurde.

Chloridbestimmung im Rattenzwerchfell

Die Ratten wurden durch Genickschlag getötet und beide Zwerchfelhälfen mit dem Rippenbogen und dem Centrum tendineum schnell entnommen. Sie wurden einmal kurz in einer Tyrodelösung abgespült und anschließend, wie oben beschrieben, von der anhängenden Flüssigkeit befreit. Sie wurden dann mit einer Pinzette in Wägegläschen gelegt und in der Analysenwaage gewogen. Das Gewicht der Wägegläschen war vorher festgestellt worden, und zwar hatten diese 24 Stunden im Trockenschrank bei 100° C gestanden, um ihr konstantes Gewicht zu erreichen. Nun wurden die Zwerchfelle in diesen Gläschen gewogen und ihr Feuchtgewicht bestimmt. Anschließend kamen sie in den Trockenschrank (100° C). Nach 48 Stunden wurden sie mit den Gläschen herausgenommen, nach Abkühlen im Exsikkator (10 Minuten) gewogen und das Trockengewicht bestimmt. Die Gläschen wurden nur mit der Tiegelzange angefaßt, um das Gewicht konstant zu halten. Nach weiteren 24 Stunden im Trockenschrank wurde das Gewicht noch einmal bestimmt, das sich gegenüber dem Gewicht nach 48 Stunden meist kaum geändert hatte. Das konstante Gewicht war meist schon nach 48 Stunden erreicht. Nun wurden die Zwerchfelle in einem Mörser zu feinem Pulver zermahlen und das Pulver in einem Wägeschiffchen von bekanntem Gewicht gewogen. Das Pulver kam dann in Zentrifugengläschen, die gleich mit einem Gummistöpsel verschlossen wurden. Das Wägeschiffchen wurde zurückgewogen und so die Einwaage genau bestimmt. In dem pulverisierten Zwerchfell wurde der Chloridgehalt nach der Methode von KUSCHINSKY u. LANGECKER bestimmt.

Prinzip der Methode:

HgCl_2 ist schwächer dissoziiert als $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$. Solange Cl-Ionen vorhanden sind, bildet sich HgCl_2 . Der 1. Tropfen unverbrauchtes $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ bildet mit Diphenylcarbazon eine violette Komplexverbindung, deren Farbe den Endpunkt

der Titration angibt. Am besten läuft diese Reaktion ab, wenn die Lösung schwach sauer ist. Enteiweißt wird mit $\text{Zn}(\text{OH})_2$, hergestellt aus saurer ZnSO_4 -Lösung und NaOH . Gewebeverdünnung 1 : 50 mit Aqua dest., 72 Stunden stehen lassen und wiederholt schütteln.

Lösungen :

1. SOMOGY: 25 g ZnSO_4 mal 7 H_2O + 31,5 ml 2n H_2SO_4 ad 2 Liter.
2. NaOH : 0,75 n = 30 g NaOH/L .
3. H_2SO_4 : 0,1 n = 2,6 ml konz. H_2SO_4 ($s = 1,84$) ad 1 L.
4. Alkohol. Diphenylcarbazon: 0.5%ig (0,5 g/100 ml Alkohol).
5. $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$: 0,004 n = 40 ml $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 0,1 n pro Liter.
(Herstellung der 0,1 n $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$: 10,86 g HgO rub. + 7-8 ml HNO_3 konz., vorsichtig kochen bis gelöst, ad 1 Liter).
6. NaCl : 0,004 n (0,234 g NaCl/L).

Faktorbestimmung:

Vorlage: 2 ml 0,004 n NaCl + 2 Tropfen H_2SO_4 0,1 n + 1 Tropfen Diphenylcarbazon titrieren mit 0,004 n $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$. (Verbrauch ungefähr 2 ml).

Durchführung:

Die pulverisierten Zwerchfelle wurden mit dem 50fachen Volumen an Wasser extrahiert, d.h. 72 Stunden unter mehrmaligem Umschütteln im verschlossenen Reagenzgläschen stehen gelassen. Dann wurden aus jedem Gläschen 0,5 ml Extrakt in ein anderes Reagenzgläschen pipettiert. Zu diesen 0,5 ml Extrakt wurde 0,5 ml H_2O + 3,56 ml SOMOGY + 0,44 ml NaOH (0,75 n) gegeben und dann die Reagenzgläschen 10 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt, wobei sie mit Glaskugeln verschlossen wurden. Anschließend wurde durch Blaubandfilter filtriert. Zu 2 ml des Filtrates wurde 1 Tropfen Diphenylcarbazon gegeben (die Lösung wurde dabei rosa) und 0,1 n H_2SO_4 bis zur Entfärbung. Nachdem die Lösung farblos war, wurden nochmals 1-2 Tropfen 0,1 n H_2SO_4 dazugegeben. Dann wurde mit 0,004 n $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ titriert, bis die violette Farbe der Vorlage erreicht war. Man ließ 0,5 ml H_2O statt des Extraktes zur Bestimmung des Leerwertes mitlaufen, der von jedem Wert abgezogen wurde.

Es wurde der Chloridgehalt des Zwerchfelles für normale und denervierte Zwerchfelle bestimmt. Außerdem wurde der Chloridgehalt nach Aufenthalt in einer

sauerstoffgesättigten Tyrodelösung von 37° C bestimmt, und zwar nach 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 und 3,0 Stunden Aufenthalt im Bad.

Beispiel einer Chloridbestimmung im normalen Zwerchfell ohne Aufenthalt in Tyrodelösung:

Gewicht der Ratte:	190 g
Wägegläschen + frisches Zwerchfell:	20,7492 g
Wägegläschen leer:	20,6222 g
Feuchtgewicht des Zwerchfells:	0,1270 g
Trockengewicht nach 48 Stunden:	20,6516 g
(Wägegläschen + Zwerchfell)	
Zwerchfell trocken:	0,0293 g
Wägeschiffchen + Zwerchfell:	7,2572 g
Wägeschiffchen leer:	7,2325 g
Wägeschiffchen zurückgewogen:	7,2325 g
Einwaage des Zwerchfells in Gramm:	0,0242 g
ml 0,75 n HNO ₃ (1 : 50) mit H ₂ O verdünnt:	1,210 ml
<u>Trockengewicht</u>	
Feuchtgewicht	0,2307 g
ml 0,004 n Hg(NO ₃) ₂	0,08
(x mal f)	
mÄquCl/kg in Trockensubstanz	80
mÄquCl/kg in Feuchtsubstanz	18,46

Statistische Auswertung:

Für die einzelnen Bestimmungsmethoden des EZR wurden jeweils die Mittelwerte und die mittlere Streuung der erhaltenen Werte errechnet (SNEDECOR).

Beispiel für die Na-Ferrocyanid-Methode in vivo:

X	=	EZR in Prozent	
n	=	Anzahl der Versuche	n = 30
$\bar{x}$	=	$\frac{\sum X}{n}$ (Mittelwert)	$\bar{x} = \frac{521,2}{30}$
			= 17,4

$$\Sigma x^2 = \Sigma X^2 - \frac{(\Sigma X)^2}{n} \quad (\text{Summe der Abweichungsquadrate})$$

$$\begin{aligned} \Sigma x^2 &= 9654,56 - \frac{271649,44}{30} \\ &= 9654,56 - 9054,98 \\ &= 599,579 \end{aligned}$$

$$s^2 = \frac{\Sigma x^2}{n-1} \quad (\text{Varianz})$$

$$\begin{aligned} s^2 &= \frac{599,579}{29} \\ &= 20,675 \end{aligned}$$

$$s = \sqrt{s^2}$$

$$\begin{aligned} s &= \sqrt{20,675} \\ &= 4,54 \end{aligned}$$

$$s\bar{x} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (\text{mittlerer Fehler der Mittelwerte})$$

$$\begin{aligned} s\bar{x} &= \frac{4,54}{\sqrt{30}} \\ &= \frac{4,54}{5,4772} \\ &= 0,828 \end{aligned}$$

$$\bar{x} \pm s\bar{x} = 17,4 \pm 0,83$$

Beispiel zur Bestimmung der Regression, und zwar für die Na-Ferrocyanidwerte in Abhängigkeit von der Denervationsdauer.

n = Anzahl der Versuche
Y = EZR in Prozent
X = Tage nach Denervation

$$n = 63$$

$$\Sigma X = 480$$

$$\Sigma X^2 = 8250$$

$$\Sigma Y = 1281,7$$

$$\Sigma X \text{ mal } \Sigma Y = 11391,5$$

$$(\Sigma X)^2 = 230400$$

$$\bar{x} = \frac{X}{n}$$

$$\bar{x} = \frac{480}{63}$$

$$= 7,62$$

$$\bar{y} = \frac{Y}{n}$$

$$\bar{y} = \frac{1281,7}{63}$$

$$= 20,34$$

$$\Sigma x^2 = \Sigma X^2 - \frac{(\Sigma X)^2}{n}$$

$$\Sigma xy = \Sigma X \text{ mal } Y - \frac{\Sigma X \text{ mal } \Sigma Y}{n}$$

$$\Sigma y^2 = \Sigma Y^2 - \frac{(\Sigma Y)^2}{n}$$

$$\hat{Y} = \bar{y} + \frac{\Sigma xy}{\Sigma x^2} \text{ mal } (X - \bar{x})$$

$$\Sigma x^2 = 8250 - \frac{230400}{63}$$

$$= 8250 - 3657,1$$

$$= 4592,9$$

$$\Sigma xy = 11391,5 - \frac{480 \times 1281,7}{63}$$

$$= 1626,2$$

$$\Sigma y^2 = 28967,63 - \frac{1642754,89}{63}$$

$$= 2892,16$$

$$\hat{Y} = 20,34 + \frac{1626,2}{4592,9} \text{ mal } (X - 7,62)$$

$$= 20,34 + 0,35 X \text{ mal } (X - 7,62)$$

$$= 20,34 + 0,35 X - 2,67$$

$$\hat{Y} = 17,67 + 0,35 X$$

Test auf Signifikanz:

Beispiel der in vivo erhaltenen Na-Ferrocyanidwerte:

n = Anzahl der Versuche

$$V_R = \frac{(\Sigma XY)^2}{x^2}$$

$$V_E = \frac{\Sigma \Sigma E}{n-2}$$

$$\Sigma \Sigma E = \Sigma y^2 - V_R$$

$$\Sigma y^2 = Y^2 - \frac{(\Sigma Y)^2}{n}$$

$$f = \frac{V_R}{V_E}$$

n = 63

$$V_R = \frac{(1626,2)^2}{4592,9}$$

$$= 575,785$$

$$V_E = \frac{(28967,63 - \frac{1642754,89}{63}) - V_R}{(63 - 2)}$$

$$= \frac{2892,16 - 575,785}{61}$$

$$= \frac{2316,38}{61}$$

$$= 37,97$$

$$f = \frac{575,78}{37,97}$$

$$= 15,16$$

$$df = 61$$

$$p < 0,001$$

TABELLE 1

in vivo								in vitro					
Natriumferrocyanid-Methode						Inulin-Methode		Natriumferrocyanid-Methode					Inulin-Methode
EZR in % des FG. bei normalen Zwerchfellen	EZR in % des FG. 5 Tage nach De- nervierung	EZR in % des FG. 10 Tage nach Denervierung	EZR in % des FG. 20 Tage nach Denervierung	EZR in % bei normalen Zwerchfellen		EZR in % bei normalen Zwerchfellen		EZR in % des FG. bei nor- malen Zwerch- fellen	EZR in % des FG. 5 Tage nach Denervie- rung		EZR in % des FG. 10 Tage nach Denervie- rung	EZR in % des FG. 20 Tage nach Denervie- rung	EZR in % des FG. bei norma- len Zwerchfellen
25,6	27,3	19,5	19,8	35,4	10,5	21,8	18,9	17,2	18,8	23,0	23,6	25,1	15,6
22,0	11,2	21,3	26,4	33,2	16,3	21,8	14,2	18,8	18,0	18,8	17,3	15,7	15,6
22,4	11,2	21,0	26,4	22,4	20,4	13,4	13,6	14,3	18,8	19,6	17,3	29,8	20,4
22,4	14,5	19,5	26,4	11,2		20,1	23,7	12,5	18,8	19,6	34,5	25,1	25,1
20,8	14,5	19,6	17,6	26,3		13,4	22,7	15,6	18,8	21,2	23,6	31,4	15,7
16,6	16,0	20,4	17,6	26,3		13,4	16,8	15,4		20,4	22,0	28,3	15,7
19,9	10,6		26,8	25,7		9,4	16,8	15,6		18,8	25,1	23,6	15,7
13,5	18,4		22,0	20,9		17,3	18,6	14,2			25,1	22,0	15,7
13,5	13,8		20,4	21,7		1,3	13,9	15,6				22,0	15,7
15,7	10,1			27,1		1,1	18,5	12,6				23,6	15,7
20,2	13,9			19,7		19,9	21,0	22,0				25,1	7,8
24,5	14,8			19,7		9,2	13,2	20,4				25,1	15,7
14,7	20,2			47,4		17,4	10,7	20,4					
17,4	19,6			37,9		17,4		18,8					
16,3	19,6			15,7		18,9		22,0					

TABELLE 2

Mittelwerte mit Streuung

Ferrocyanid-Methode in vivo		Ferrocyanid-Methode in vitro		Inulin-Methode in vivo		Inulin-Methode in vitro		Chlorid-Gehalt im Zwerchfell in vivo	
n	EZR in % des Frischgewichtes	n	EZR in % des Frischgewichtes	n	EZR in % des Frischgewichtes	n	EZR in % des Frischgewichtes	n	würde einem EZR entsprechen
30	17,40 $\pm$ 0,83	20	17,43 $\pm$ 0,63	28	15,65 $\pm$ 0,87	12	16,20 $\pm$ 1,1	12	16,95 $\pm$ 2,29
6	20,2 $\pm$ 0,3	7	20,2 $\pm$ 1,4		-		-		-
9	22,5 $\pm$ 1,4	8	23,6 $\pm$ 1,9		-		-		(34,47 $\pm$ 1,85)
18	24,3 $\pm$ 2,2	12	24,73 $\pm$ 1,2		-		-		(38,46 $\pm$ 1,53)

VERSUCHSERGEBNISSE

Extrazellulärraumbestimmung

Die Werte, die für den EZR erhalten wurden, sind in Tabelle 1 angegeben. Von den einzelnen Versuchstreihen wurde jeweils der Mittelwert mit seiner Streuung berechnet. Diese Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 2 wiedergegeben. Für die Na-Ferrocyanidmethode in vivo ergab sich bei 30 Versuchen für den EZR ein Mittelwert von 17,4%. Bei der Na-Ferrocyanidmethode in vitro wurde bei 20 Versuchen der gleiche Mittelwert erhalten. Vergleicht man nun auch jeweils die entsprechenden Werte (Tabelle 2), die in vivo und in vitro für denervierte Zwerchfelle erhalten wurden, so stellt man fest, daß nie ein signifikanter Unterschied zwischen den Ergebnissen der beiden Versuchsanordnungen vorhanden ist. Auch die Bestimmung des EZR mit der Inulinmethode weist zwischen den Werten, die in vivo und in vitro erhalten wurden, keinen signifikanten Unterschied auf. Daraus ist zu schließen, daß der EZR beim Aufenthalt in Tyrodelösung keine Veränderung erfährt. Vergleicht man dagegen die Ferrocyanidwerte mit den Inulinwerten, so liegen letztere sowohl bei der Bestimmung in vivo als auch bei der Bestimmung in vitro etwas niedriger. Bei 28 Versuchen mit der Inulinmethode in vivo wurde ein Mittelwert von 16,20% EZR erhalten, bei 12 Versuchen in vitro ein Mittelwert von 16,95%. Der Unterschied ist aber nicht signifikant.

Nach Denervierung des Zwerchfells steigt der EZR mit der Denervationsdauer an. Es wurde 5 Tage nach Denervierung mit der Na-Ferrocyanidmethode sowohl in vivo als auch in vitro bei 6 bzw. 7 Versuchen ein EZR von 20,2%, zehn Tage nach Denervierung bei 9 Versuchen in vivo ein Wert von 22,5%, bei 8 Versuchen in vitro ein Wert von 23,6% ermittelt. 20 Tage nach Denervierung beträgt der EZR bei 18 Versuchen in vivo 24,3%, bei 12 Versuchen in vitro 24,7%. Stellt man die Werte für den EZR für normale und denervierte Zwerchfelle in einer Kurve dar, so sieht man einen deutlichen Anstieg des EZR zwischen normalen und denervierten Zwerchfellen am 10. Tage. Vom 10. bis 20. Tage nach Denervierung ist der Anstieg geringer.

Stellt man von den Gesamtwerten, die bei der Na-Ferrocyanidmethode in vivo bzw. in vitro erhalten wurden, jeweils eine Regressionsgleichung auf, so ergibt sie für die Abhängigkeit des EZR von der Denervationsdauer eine lineare Gleichung (Abbildung 1).

Abbildung 1: Abhängigkeit des Extrazellulär-raumes von der Denervationsdauer.

Ordinate: Extrazellulär-raum in % des Feuchtgewichtes des Muskels.

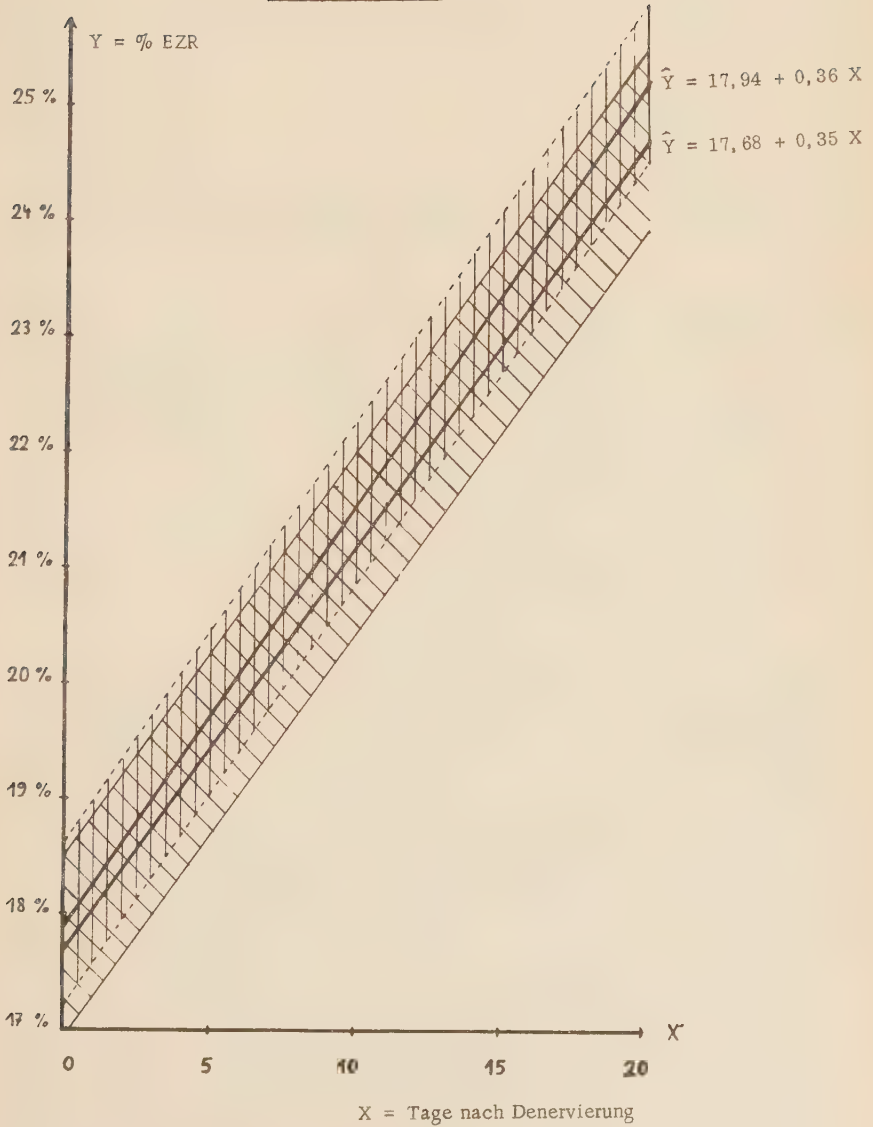
Abszisse: Tage nach Denervation.

Regressionslinien $\pm s_a$ für in vivo- und für in vitro-Versuche.

Regression $y = 17,68 + 0,35 X$ für in vivo-Versuche.

Regression $y = 17,94 + 0,36 X$ für in vitro-Versuche.

ABBILDUNG 1



Natriumferrocyanidmethode in vivo:

$$\hat{Y} = 17,68 + 0,35 X \quad s_a = 0,85 \quad P < 0,001 \quad n = 63$$

Natriumferrocyanidmethode in vitro:

$$\hat{Y} = 17,94 + 0,36 X \quad s_a = 0,68 \quad P < 0,001 \quad n = 45$$

X = Tage nach Denervation

Y = Extrazellulärraum in %

Die Berechnung ergibt, daß die Zunahme sowohl für die Natriumferrocyanidmethode in vivo als auch für die Natriumferrocyanidmethode in vitro signifikant ist.

Chloridbestimmung im Zwerchfell:

Die Werte für den Chloridgehalt des Zwerchfells sind in Tabelle 3 wiedergegeben. Der Mittelwert des Chloridgehaltes beträgt für normale Zwerchfelle 18,4 mÄqu/kg Feuchtgewicht. Bei denervierten Zwerchfellen wurde am 9. Tage nach Denervierung ein Mittelwert von 34,5 mÄqu/kg und am 18. Tage von 38,5 mÄqu/kg Feuchtgewicht erhalten. Trägt man diese Werte in einer Kurve auf, so erhält man einen steilen Anstieg zwischen normalen Zwerchfellen und den denervierten Zwerchfellen am 9. Tag. Zwischen dem 9. und dem 18. Tage wird die Steigung dann geringer. Das Zwerchfell enthält also nach Denervierung mehr Chlor-Ionen.

Von den Gesamtwerten des Chloridgehaltes des Zwerchfelles lassen sich in Abhängigkeit von der Zeitdauer des Aufenthaltes in Tyrodelösung jeweils für normale und denervierte Zwerchfelle lineare Regressionsgleichungen aufstellen (Abbildung 2).

Abbildung 2: Abhängigkeit des Chloridgehaltes von der Dauer des Aufenthaltes des Muskels in Tyrodelösung.

Ordinate: Chloridgehalt in mÄqu/kg Feuchtgewicht.

Abszisse: Badaufenthalt in Stunden.

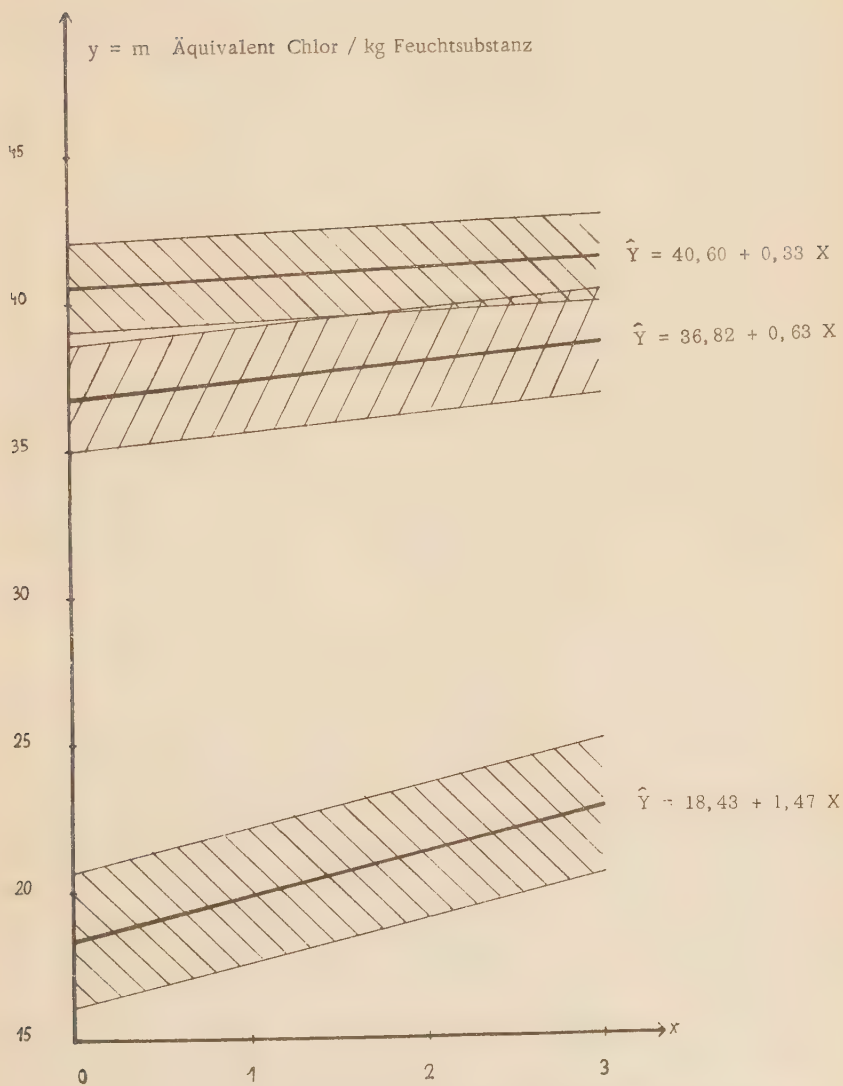
Regressionslinien $\pm s_a$ für normale, 10 Tage lang und 19 Tage lang denervierte Zwerchfelle.

Regression $y = 18,43 + 1,47 X$ für normale Zwerchfelle.

Regression $y = 36,82 + 0,63 X$ für 10 Tage lang denervierte Zwerchfelle.

Regression $y = 40,60 + 0,33 X$ für 19 Tage lang denervierte Zwerchfelle.

ABBILDUNG 2



x = Aufenthalt in Tyrodelösung in Stunden

Normale Zwerchfelle:

$$\hat{Y} = 18,43 + 1,47 X \quad s_a = 2,29 \quad P < 0,001 \quad n = 34$$

9. Tag nach Denervation:

$$\hat{Y} = 36,82 + 0,63 X \quad s_a = 1,85 \quad P < 0,001 \quad n = 32$$

18. Tag nach Denervation:

$$\hat{Y} = 40,60 + 0,33 X \quad s_a = 1,53 \quad P > 0,05 < 0,1 \quad n = 32$$

Y = Chloridgehalt in mÄqu/kg Feuchtgewicht

X = Badaufenthalt in Stunden

Wie aus den Gleichungen und aus der Steigung ihrer Geraden in Abb. 2 ersichtlich ist, findet beim Aufenthalt im Bad eine deutliche Zunahme des Cl-Ionen-Gehaltes statt, und zwar ist sie bei normalen Zwerchfellen groß, bei denervierten Zwerchfellen am 9. Tage etwas geringer und am 18. Tag noch geringer. Bei der Signifikanzberechnung der Zunahme ergibt sich, daß diese bei normalen Zwerchfellen deutlich signifikant ist, bei den Zwerchfellen am 9. Tag ist sie ebenfalls signifikant, dagegen bei denen am 18. Tage gerade nicht mehr.

BESPRECHUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Über die Bestimmung des EZR liegen verschiedene Untersuchungen vor (Mc. LENNAN, MANERY u. HASTINGS; LEDINGHAM; CREESE; CREESE u. D'SILVA u. HASHISH; PAPIUS u. ELLIOTT; CONWAY u. FITZGERALD; RIXON u. STEVENSON; JOHNSON; BOYLE u. CONWAY u. KANE u. D'REILLY; GAUDINO; EDWARDS u. HARRIS). Die Ergebnisse dieser Versuche liegen zwischen den Extremwerten von 7% bis 35% je nach Tierart und Versuchsobjekt. Die Tabelle 4 gibt die verschiedenen Resultate wieder. Die in der Literatur bekannten Bestimmungen wurden am Frosch, am Kaninchen und an der Ratte durchgeführt. Der Mittelwert der an der Ratte ermittelten Werte beträgt 18,6% EZR. Der am Frosch ermittelte Wert liegt höher, nämlich bei 22,2% EZR. Vor allem fallen bei den Bestimmungen am Frosch die sehr hohen Werte (21 - 46%) auf, die von JOHNSON angegeben werden. Der Verfasser führt die Größe des EZR auf den Ernährungszustand der Tiere zurück. Der am Kaninchen erhaltene Mittelwert dagegen liegt tiefer, und zwar bei 9,5%. LEDINGHAM und CREESE

TABELLE 3

Chloridgehalt in mÄqu/kg Feuchtgewicht

Badaufenthalt in Stunden	normale Zwerchfelle	Zwerchfelle 9 Tage nach Denervation	Zwerchfelle 18 Tage nach Denervation
0	20, 18	26, 85	58, 40
0	10, 88	31, 65	30, 51
0	21, 23	38, 01	48, 18
0	15, 52	25, 03	53, 94
0	15, 46	58, 84	43, 60
0	17, 21	20, 34	25, 78
0	16, 67	30, 24	39, 13
0	18, 46	32, 08	40, 95
0	37, 80	46, 20	36, 40
0	10, 58	47, 19	41, 09
0	18, 18	27, 86	37, 41
0	28, 94	35, 15	34, 68
0		23, 31	55, 40
0		40, 07	32, 33
0, 5	20, 54	49, 68	36, 19
0, 5	22, 97	47, 98	46, 43
1	26, 06	46, 42	54, 65
1	21, 87	40, 07	38, 52
1, 5	32, 06	50, 23	44, 10
1, 5	32, 16	44, 07	34, 50
2	34, 60	55, 08	37, 27
2	24, 15	53, 35	29, 22
2, 5	35, 70	51, 66	38, 63
2, 5	44, 07	47, 89	38, 32
3	37, 03	51, 96	51, 31
3	47, 63	50, 90	52, 82
3	51, 84	42, 98	50, 14
3	58, 00	31, 50	47, 84
3	43, 16	51, 07	53, 60
3	41, 63	48, 82	41, 61
3	42, 16	46, 83	54, 67
3	49, 33	33, 10	49, 57
3	44, 70		
3	41, 53		
3	43, 02		
3	54, 82		

u. D'SILVA erhielten für die Beinmuskulatur der Ratte einen auffallend niedrigen Wert, nämlich beide 9,6%. Der EZR des Rattenzwerchfells wurde bereits von CREESE, PAPIUS und RIXON bestimmt. Sie erhielten Werte von 25 bis 27%. Der in dieser Arbeit durch die Na-Ferrocyanidmethode erhaltene Wert von 17,4% liegt im Bereich des Mittelwertes aller an der Ratte bestimmten Werte. Eine Bestimmung des EZR nach Denervation ist bis jetzt in der Literatur nicht bekannt. Durch die in der vorliegenden Arbeit erhaltenen Werte wurde eine Zunahme des EZR nach Denervation festgestellt. Diese Zunahme wird darauf zurückgeführt, daß die Muskelfasern an denervierten Muskeln atrophisch werden. Die Atrophie der Muskeln nach Denervierung wurde wiederholt histologisch nachgewiesen, insbesondere haben KUSCHINSKY, LÜLLMANN, HOFKE und MUSCHOLL die Atrophie der Muskelfasern am denervierten Rattenzwerchfell histologisch untersucht. Die Zunahme des EZR ist zwischen dem 0. und 10. Tage größer als zwischen dem 10. und 20. Tage. Die Übereinstimmung des EZR bei den in vivo und in vitro durchgeführten Bestimmungsmethoden beweist, daß der EZR beim Aufenthalt in Tyrodelösung keine Veränderung erfährt. Hierfür sprechen auch die Untersuchungsergebnisse von CREESE, der bei seiner Bestimmung in vivo einen Wert von $24,0 \pm 2,3\%$, in vitro einen Wert von $26,4 \pm 3,1\%$ erhielt. Wie lange die Zwerchfelle im Bad aufbewahrt wurden, ist aus dieser Arbeit nicht zu ersehen. Eine weitere Bestimmung des EZR wurde durch Ermittlung des Chloridgehaltes des Zwerchfells durchgeführt. Da nach CONWAY die Chlor-Ionen nur zu einem geringen Teil, der vernachlässigt werden kann, in das Zellinnere eindringen, läßt sich auf diese Weise der EZR bestimmen. Hierbei wurde ein Mittelwert von 16,9% erhalten. CONWAY gibt am Kaninchenmuskel einen Chlorraum von 13%, GAUDINO ebenfalls am Kaninchen einen Chlorraum von 9,5% und CONWAY u. FITZGERALD von 15,0% am Kaninchenmuskel an.

Nach Denervierung des Zwerchfells läßt sich allerdings der EZR auf diese Weise nicht mehr bestimmen. Da der Chloridgehalt des Zwerchfells nach Denervation stark zunimmt, muß man annehmen, daß ein Teil des Chlors dann intrazeitellär liegt. Aus diesem Grunde ist eine Berechnung des EZR dann nicht mehr möglich. Ebenfalls ist nach Aufenthalt in Tyrodelösung die Bestimmung des EZR unmöglich, da dieser zur Chloraufnahme führt. Die Chloraufnahme ist um so stärker, je niedriger der ursprüngliche Chlorgehalt ist.

TABELLE 4

Autor	Versuchstier	Gewebe	Versuchsmethode	EZR in % (Cl-Raum)
JOHNSON, J. A.	Frosch	M. Satorius (isoliert)	Isotopen (radioaktive Sulfate u. Saccharose)	24 - 46 %
BOYLE, P. J. u. CONWAY, E. J. u. KANE, F. u. D'REILLY, H. L.	Frosch	M. Satorius		13 % Mittelwert
JOHNSON, J. A.	Frosch	M. Satorius	Inulin	18 $\pm$ 0,5 %
EDWARDS, C. u. HARRIS, E. J.	Frosch	M. Satorius	Inulin u. Saccharose	7 % 15,3 - 26,2 %
CONWAY, E. J. u. FITZGERALD, O.	Kaninchen	Muskel	Inulin	7 %
GAUDINO, M.	Kaninchen	Muskel	Cl-Raum	(13 %)
GAUDINO, M.	Kaninchen	Muskel	Saccharose Chlor-Raum	5,7 % (9,5 %)
CONWAY, E. J. u. FITZGERALD, O.	Säugetiergewebe Kaninchen	Gewebe	Inulin Cl-Raum	7 % (15 %)
Mc. LENNAN, H.	Ratte	M. extensor dig. longus	Inulin (20°C) Inulin (0°C) Ferrocyanid (1') Inkubation (20°C)	15 % 11 % 21,5 %
MANERY, J. F. u. HASTINGS, A. B.	Ratte	M. gastrocnemius		12 %
LEDINGHAM, J. M.	Ratte	Beinmuskulatur	Inulin	9,6 %
CREESE, R.	Ratte	Zwerchfell	Inulin	25 %
CREESE, R. u. D'SILVA, J. L. u. HASHISH, S. E. E.	Ratte	Beinmuskulatur	Inulin	9,6 %
PAPPIUS, H. M. u. ELLIOTT, K. A. C.	Ratte	Zwerchfell	Inulin	25 %
RIXON, R. H. u. STEVENSON, J. A. F.	Ratte	Zwerchfell	Inulin	26,6 %
CREESE, R.	Ratte (nephrektomiert)	Zwerchfell	Inulin (in vivo)	24,0 $\pm$ 2,3 %
	Ratte	Zwerchfell	Inulin (in vitro)	26,4 $\pm$ 3,1 %

ZUSAMMENFASSUNG

Zunächst wurde der EZR am normalen isolierten Zwerchfell der Ratte bestimmt. Dann wurde zu verschiedenen Zeitpunkten nach Exairese des Nervus phrenicus die Größe des EZR ermittelt. Zur Bestimmung wurden Na-Ferrocyanid und Inulin benutzt. Alle Versuche wurden in vitro und in vivo durchgeführt und die erhaltenen Werte verglichen. Als weiteres wurde der Cl-Ionengehalt des normalen und des denervierten Zwerchfells und daraus jeweils der ihm entsprechende EZR bestimmt. Außerdem wurde der Chlorionengehalt des Zwerchfells nach verschieden langem Aufenthalt in Tyrodelösung untersucht. Alle Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet.

Der EZR des Rattenzwerchfells beträgt normal im Durchschnitt 17% des Feuchtgewichtes. Nach der Denervation des Muskels ändert sich der Anteil des EZR in Abhängigkeit von der Zeit nach der Denervation, und zwar steigt er an. Bis zum 5. Tage nimmt er schnell zu bis zu 20% des Feuchtgewichtes, dann etwas langsamer, so daß er am 10. Tage einen Wert von 22% des Feuchtgewichtes und am 18. Tage 24% des Feuchtgewichtes erreicht hat. Die Bestimmung des EZR in vivo und in vitro deckt sich nahezu. Bei der in vivo durchgeführten Na-Ferrocyanidmethode wurde bei 30 Versuchen ein Mittelwert von $17,4\% \pm 0,83$, bei der Bestimmung in vitro bei 20 Versuchen ein Mittelwert von $17,4\% \pm 0,63$ ermittelt. Bei der Inulinmethode in vivo wurde ein Mittelwert von $15,65\% \pm 0,87$, in vitro bei 12 Versuchen ein Mittelwert von $16,2\% \pm 1,1$ ermittelt. Der Aufenthalt in Tyrodelösung bis zu 3 Stunden verändert den EZR des Zwerchfells nicht.

Nachdem das Chlor-Ion nur zu einem ganz geringen Teil in die Zelle eintritt (CONWAY), läßt sich aus der Bestimmung des Chloridgehaltes im normalen Muskel und im Plasma ebenfalls der EZR berechnen, und zwar beträgt er bei einem Chloridgehalt des Zwerchfells von $18,26 \pm 2,09$ mÄqu/kg des Feuchtgewichtes und einem Plasmagehalt von 108,8 mÄqu/Liter = 16,95%. Ein Ergebnis, das weitgehend mit dem der anderen Bestimmungsmethoden übereinstimmt. Der EZR läßt sich auf diese Weise aber nur für normale Zwerchfelle in vivo bestimmen, da normale und denervierte Zwerchfelle beim Aufenthalt in Tyrodelösung Chlorionen in das Zellinnere aufnehmen. Dasselbe geschieht auch nach Denervation allein, so daß auch dann der Chlorionengehalt kein Maß für den EZR sein kann.

Der Chloridgehalt des normalen Rattenzwerchfells beträgt 18,43 mÄqu/kg Feuchtgewicht. In Tyrodelösung nimmt das Zwerchfell in Abhängigkeit mit der Zeit (0-3 Stunden) Chlorionen auf. Nach 3 Stunden ist der Chlorionen-

gehalt auf 44,91 mÄqu/kg Feuchtgewicht angestiegen. Nach Denervation beträgt er 36,82 mÄqu/kg Feuchtgewicht am 9. Tage und am 18. Tage nach Denervation 40,60 mÄqu/kg Feuchtgewicht.

LITERATUR

- BOYLE, P.J. und CONWAY, E.J. und KANE, F. und D'REILLY, H.L. : J. of Physiol. 99, 401 (1944) Zit.n. JOHNSON, J.H. -- CONWAY, E.J. und FITZGERALD, O. : Diffusion relations of urea, inulin and chlorid in some mammalian tissues. J. of Physiol. 101, 86 (1942). -- CONWAY, E.J. : Physiol. Rev. 37, 84 (1957). -- CREESE, R. : Measurement of cation fluxes in rat diaphragm. Proc. Roy. Soc. B. 142, 497 (1954). -- CREESE, R. und D'SILVA, J. L. und HASHISH, S. E. E. : Inulin space and fibre size of stimulated rat muscle. J. Physiol. 127, 525 (1955). -- EDWARDS, C. und HARRIS, E. J. : Factors influencing the sodium movement in frog muscle with a discussion of the mechanism of sodium movement. J. Physiol. 135, 567 (1957). -- GAUDINO, M. : Water and electrolyte exchanges between excised rabbit tissue and plasma. Americ. J. Physiol. 187, 75 (1956). -- HIGASHI und PETERS, G. : A Rapid Colorimetric Method for the Determination of Inulin and Urine. J. Klinische Med. 35, 475 (1950). -- HUSSON, G. S. : A Method for the Determination of Sodium Ferrocyanid at low Concentration in Body-Fluids. Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 74, 230 (1950). -- JOHNSON, J. A. : Influence of onabain, strophanthidin and dihydrostrophanthidin on sodium and potassium transport in frog satorii. Americ. J. Physiol. 187, 328 (1956). -- JOHNSON, J. A. : Kinetics of release of radioactive sodium, sulfate and sucrose from the frog satorius muscle. Americ. J. Physiol. 181, 263 (1955). -- KLEEMAN, C. R. und EPSTEIN, E. H. und RUBINI, M. E. und LAM DIN, E. : Initial Distribution and Fate of Ferrocyanide in Dogs. Americ. J. Physiol. 182, 548 (1955). -- KUSCHINSKY, G. und LANGECKER : Eine mercurimetrische Bestimmung des Chlors im Harn. Biochem. Z. 318, 164 (1948). -- KUSCHINSKY, G. und LÜLLMANN, H. und HOEFKE, W. und MUSCHOLL, E. : Über das Verhalten der Myofibrillen und die Funktion von Rattenmuskeln. Anatomischer Anzeiger Bd. 103, Heft 5/9 (1956). -- LEDINGHAM, J. M. : Clin. Sci. 12, 337 (1953). -- McLENNAN, H. : The Diffusion of Potassium, Inulin and Theocyanate in the extracellular spaces of Mammalian Muscle. Biochem. et biophys. Acta 21, 472 (1956). -- LÜLLMANN, H. und MUSCHOLL, E. : Über die Wirkung hypotoner Salzlösungen auf das Rattenzwerchfell. Arch. exp. Path. und Pharmacol. 221, 209 (1937). -- MANERY, J. F. und HASTINGS, A. B. : J. biol. Chem. 127, 657 (1939), Zit. n. McLENNAN, H. -- PAPPIUS, H. M. und ELLIOTT, K. A. C. : Canad. J. Biochem. and Physiol. (in press 1956). -- RIXON, R. H. und STEVENSON, J. A. F. : The water and electrolyte metabolism of rat diaphragm in vitro. Canad. J. Biochem. and Physiol. 34, 1069

(1956). -- SNEDECOR, G. W. : Statistical Methods Applied to Experiments in Agriculture and Biology. Fourth Edition (1950). -- SOMOGYI, C.J. : J. Biol. Chem. 86, 655 (1930).

+

LEBENS LAUF

Am 9. Februar 1929 wurde ich als Tochter des Arztes Dr. Johannes Rozek und seiner Ehefrau Henriette, geb. Leblang in Wallerfangen/Saar geboren. Nach dem Besuch der Volks- und Oberschule legte ich im Juni 1948 an dem Königin Katharina Stift in Stuttgart die Reifeprüfung ab.

Mit dem Wintersemester 1950/51 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Erlangen. Im Wintersemester 1954/55 und Sommersemester 1955 studierte ich an der Universität Basel und ab Wintersemester 1955/56 an der Universität Mainz. Hier legte ich im November 1958 das medizinische Staatsexamen ab.

GESAMTHERSTELLUNG:

DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstraße 64-66

